

- [4] L. CHARDONNENS & H. CHARDONNENS, *Helv.* **41**, 2109 (1958).  
 [5] L. CHARDONNENS & R. RITTER, *Helv.* **38**, 393 (1955).  
 [6] M. BATTEGAY & M. KAPPELER, *Bull. Soc. chim. France* [4] **35**, 990 (note 2) (1924).  
 [7] N. P. BUU-HOI, P. JACQUIGNON & O. ROUSSEL, *C. r. hebd. Séances Acad. Sci.* **257**, 4193 (1963).  
 [8] N. P. BUU-HOI, P. JACQUIGNON & O. ROUSSEL, *Bull. Soc. chim. France* **1965**, 322.  
 [9] N. P. BUU-HOI, G. SAINT-RUF & M. DUFOUR, *J. chem. Soc.* **1964**, 5433.  
 [10] G. S. MIRONOV, M. I. FARBEROV, V. D. SHEIN & I. I. BESLAPOVA, *Chem. Abstr.* **65**, 10687, No 115198 (1967).  
 [11] G. ERRERA, *Gazz. chim. ital.* **38**, II, 588 (1908).  
 [12] S. GABRIEL, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **17**, 1389 (1884).  
 [13] L. CHARDONNENS & R. DOUSSE, *Helv.* **50**, 321 (1967).  
 [14] L. CHARDONNENS & J. RODY, *Helv.* **42**, 1328 (1959).

## 124. Modifikationen von Antibiotika

2. Mitteilung [1]

### Über die Darstellung von 7-Amino-cephalosporansäure

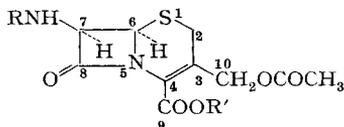
von B. Fechtig, H. Peter, H. Bickel und E. Vischer

Chemische Forschungslaboratorien des Departements Pharmazentika  
 der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel

(14. V. 68)

*Summary.* 7-Aminocephalosporanic acid or esters thereof are prepared either by intramolecular aminolysis of esters of the antibiotic cephalosporin C or *via* imino-ethers derived from the latter. A simple procedure for the preparation of 7-aminocephalosporanic acid in high yield is described.

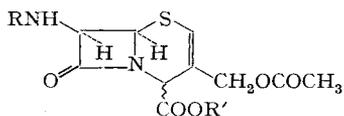
7-Aminocephalosporansäure (1) hat neuerdings als Ausgangsmaterial für die Herstellung antibakterieller Wirkstoffe praktische Bedeutung erlangt [2]. Ihre N-Acylderivate, die semisynthetischen Cephalosporine, zeichnen sich im allgemeinen



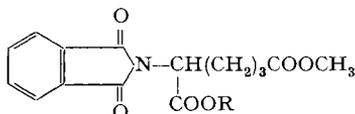
	R	R'
<b>1</b>	H-	H-
	2' 1' 3' 4' 5' 6'	
<b>2</b>	H <sub>2</sub> N · CH[COOH]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	Na-
<b>3</b>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> C · O · CONH · CH[COOH]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	H-
<b>4</b>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> C · O · CONH · CH[COOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> -
<b>5</b>	H <sub>2</sub> N · CH[COOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> -
<b>6</b>	H-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> -
<b>7</b>	ClCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NHCO-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> -
<b>8</b>	H <sub>2</sub> N · CH[COOCH(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CH-
<b>9</b>	H-	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CH-
<b>10</b>	<i>o</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (CO) <sub>2</sub> N · CH[COOH]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	H-
<b>11</b>	<i>o</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (CO) <sub>2</sub> N · CH[COOCH(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CH-
<b>12</b>	<i>o</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (CO) <sub>2</sub> N · CH[COOH]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CH-
<b>13</b>	<i>o</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (CO) <sub>2</sub> N · CH[COOCH <sub>3</sub> ]CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CH-

gegenüber den verwandten Penicillinen durch ein breiteres antibakterielles Spektrum aus. Insbesondere sind sie gegen penicillinresistente Keime wirksam [3].

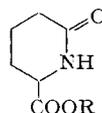
Das den Cephalosporinen zugrundeliegende kondensierte  $\beta$ -Lactam-dihydrothiazin-System ist, vor allem in saurem Milieu, etwas stabiler als das  $\beta$ -Lactam-thiazolidin-System der Penicilline. Dies ermöglichte es ABRAHAM und Mitarbeitern [4], **1** bei der Säurehydrolyse des Antibiotikums Cephalosporin C (**2**) erstmals zu fassen, allerdings in Ausbeuten ( $< 1\%$ ), die die Bereitung praktischer Mengen ausschlossen.



	R	R'
<b>14</b>	H-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> -
<b>15</b>	H-	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CH-
<b>16</b>	H-	H-



<b>17a</b>	R = -CH(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
<b>17b</b>	R = -H
<b>17c</b>	R = -CH <sub>3</sub>

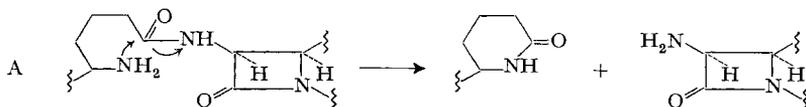


<b>18a</b>	R = -CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>18b</b>	R = -CH(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>

Während Enzyme mikrobiologischen Ursprungs, welche die hydrolytische Abspaltung des 6-N-Acylrestes natürlicher Penicilline katalysieren, relativ leicht zu finden sind, scheinen entsprechende Fermente für die Abspaltung der *p*- $\alpha$ -Aminoadipinsäure aus **2** nicht vorzukommen [5]. Bis jetzt ist es auch nicht gelungen, **1** auf direktem Wege fermentativ zu erzeugen, wie dies im Falle der 6-Aminopenicillansäure möglich ist. Man ist somit für die Darstellung von **1** auf den chemischen Abbau des natürlichen **2** oder auf totalsynthetische Methoden angewiesen<sup>1)</sup>.

1962 gelang es MORIN *et al.* [6] **1** durch spezifische Spaltung der Amidbindung in der Seitenkette von **2** unter Verwendung von Nitrosylchlorid in Ameisensäure in Ausbeuten von ca. 40% d. Th. zugänglich zu machen. Über eigene Versuche mit der gleichen Zielsetzung wird im folgenden berichtet. Zwei Arbeitshypothesen wurden diesen Versuchen zugrundegelegt (Schema A bzw. B):

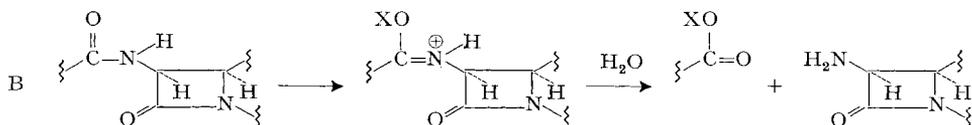
1. Die in der Adipinsäure-Seitenkette von **2** vorliegende primäre Aminogruppe sollte als Nucleophil, dank ihrer günstigen Anordnung, das Carbonyl der Amidgruppe intramolekular angreifen können, ohne dabei das wesentlich reaktivere Carbonyl des  $\beta$ -Lactamringes zu tangieren (Schema A):



Mit **2** selbst, das eine Aminodicarbonsäure darstellt, wäre diese Reaktion allerdings kaum zu realisieren, da die Aminogruppe ( $pK_a = 9,8$ ) [7] innerhalb des Stabilitätsbereiches der Molekel in protonierter Form vorliegt.

<sup>1)</sup> Vgl. Übersichtsreferat E. VAN HEYNINGEN [2].

2. Reagenzien, die instande sind, Enolderivate einer Amidgruppierung zu bilden, sollten zwischen der in der Seitenkette vorliegenden sekundären Amidgruppe und der  $\beta$ -Lactamgruppe unterscheiden können, da zu erwarten ist, dass sich die letztere aus sterischen Gründen nur schwerlich enolisieren wird (Schema B):



Aus der sekundären Amidgruppe müsste somit bei geeigneter Wahl von X unter Erhaltung des  $\beta$ -Lactamringes eine gegebenenfalls leicht hydrolysierbare Imino-enol-Gruppierung entstehen.

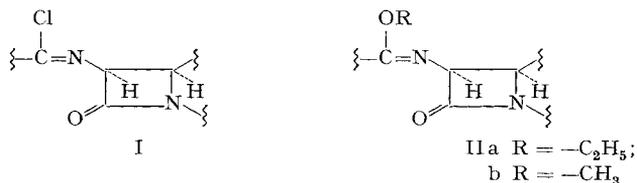
Beide Reaktionswege erwiesen sich, wie nachfolgend an ausgewählten Beispielen gezeigt wird, als gangbar, sofern **2** mit Schutzgruppen versehen wurde.

*Spaltung durch intramolekulare Aminolyse.* **2** wurde mit *t*-Butyloxycarbonylazid zum N-geschützten Derivat **3** und dieses mit Phenyldiazomethan zum kristallinen Diester **4** (Smp. 87–88°) umgesetzt. Kurze Behandlung mit Trifluoressigsäure entfernte die N-Schutzgruppe. Der dabei erhaltene, amorphe Cephalosporin-C-dibenzylester (**5**) lieferte beim Stehenlassen bei Raumtemperatur in verdünnter Methylenchloridlösung und in Gegenwart von Pyridin-Essigsäure langsam den gemäss Schema A erwarteten 7-Aminocephalosporansäure-benzylester (**6**) sowie den optisch aktiven, kristallinen Lactamester **18a** (Smp. 68–69°). **6** wurde als kristallines  $\beta$ -Chloräthyl-carbamoyl-Derivat **7** (Smp. 175–177°) charakterisiert. Die Ausbeute an **6** betrug ca. 50% d. Th. Unter weniger optimalen Bedingungen wurde die Ausbeute vor allem durch die Bildung des  $\Delta^2$ -Isomeren **14** eingeschränkt. Die Verschiebung der Doppelbindung aus der  $\Delta^3$ - in die  $\Delta^2$ -Stellung kann, sobald die C(4)-ständige Carboxylgruppe verestert vorliegt, schon in schwach basischem Milieu leicht erfolgen. Diese unerwünschte Nebenreaktion trat in vermehrtem Masse beim Dibenzhydylester **8** ein. Diesen hätten wir seiner leichten Spaltbarkeit und guten Zugänglichkeit wegen dem Benzylester vorgezogen. Durch intramolekulare Aminolyse von **8** erhielt man nach Abtrennung des neutralen Piperidonesters **18b** ein Gemisch der isomeren Basen **9** und **15**. Durch Behandlung mit Trifluoressigsäure-Anisol [8] wurden die Benzhydryl-Schutzgruppen entfernt. Aus dem Reaktionsgemisch liess sich **1** in einer Ausbeute von ca. 15% d. Th. isolieren.

Damit war die Durchführbarkeit der intramolekularen Aminolyse experimentell belegt. Im folgenden beschäftigten wir uns jedoch eingehender mit dem 2. Versuchsplan.

*Spaltung via Imino-methyläther.* **2** reagierte in schwach alkalischer, wässriger Lösung mit Äthoxycarbonylphtalimid annähernd quantitativ zum amorphen N-Phtalylcephalosporin C (**10**), das mit Diphenyldiazomethan in ebenfalls sehr guter Ausbeute zum kristallinen Dibenzhydylester **11** (Smp. 161–163°) umgesetzt wurde. Dank seiner ausgezeichneten Kristallisationstendenz konnte **11** ohne Schwierigkeit auch aus rohen Fermentationschargen von **2** hergestellt werden. **11** liess sich durch kurze Einwirkung von Trifluoressigsäure in Gegenwart von Anisol verlustfrei in **10** zurückverwandeln, was den Diphenylmethyl-Rest als aussichtsreiche Carboxyl-

Schutzgruppe erscheinen liess. Versuche, **11** mit Hilfe von «MEERWEIN-Reagens»,  $[\text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_3]^+\text{BF}_4^-$ , direkt zum Iminoäther IIa umzusetzen, verliefen unbefriedigend.



Dagegen reagierte **11** in pyridinhaltigem Methylenchlorid mit  $\text{PCl}_5$  oder mit  $\text{POCl}_3$  vermutlich zum Iminochlorid I [9] und dieses nach Zugabe von Methanol zum nicht isolierten Imino-methyläther IIb. Wurde hierauf die IIb enthaltende Reaktionslösung mit verdünnter wässriger Säure behandelt, dann trat die gewünschte Spaltung rasch ein. Der dabei anfallende 7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (**9**), der aus Äther kristallin (Smp. 126–127°) erhalten werden konnte, wurde meistens mit Trifluoressigsäure-Anisol direkt zur 7-Aminocephalosporansäure (**1**) gespalten. **1** fasste man beim isoelektrischen Punkt als schwerlösliches, mikrokristallines Pulver (UV:  $\lambda_{\text{max}} = 261 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 8500$ ). Zur weiteren Charakterisierung wurde dessen N-Phenylacetyl-Derivat (Smp. 168–169°) hergestellt. Die abgespaltene D- $\alpha$ -Amino-adipinsäure konnte in Form von **17a** (Smp. 66–68°) aus dem Reaktionsgemisch isoliert und nach Überführung in **17c** mit racemischem N-Phtalyl- $\alpha$ -amino-adipinsäure-dimethylester verglichen werden.

Bei der Darstellung von **11** entstand gelegentlich der Monobenzhydrylester **12** als Nebenprodukt. In besserer Ausbeute und in kristalliner Form (Smp. 106–108°) konnte diese Verbindung bei der Veresterung von **10** mit unterschüssigem Diphenyldiazomethan in Gegenwart von Pyridin erhalten werden. Weiterveresterung mit Diazomethan lieferte den gemischten Ester **13** (Smp. 103–105°), der direkt zu **17c** und **9** gespalten wurde, womit auch die Stellungen der Estergruppen bewiesen waren<sup>2)</sup>.

Die geschilderte Reaktionsfolge liess sich weiter auf ähnliche Weise, in wechselnden Ausbeuten, mit einer Reihe verschiedener Cephalosporinderivate, u. a. auch mit Derivaten der Iso-( $\Delta^2$ )-aminocephalosporansäure (**16**), durchführen. Dabei verzichteten wir in allen Fällen auf die Isolierung der labilen Zwischenprodukte vom Typus I und II. Mit **11** als Ausgangsmaterial konnte **1** in Ausbeuten von  $\sim 80\%$  d. Th. erhalten werden.

Eine wichtige technische Vereinfachung erbrachte der Ersatz der Benzhydryl- durch die Trimethylsilyl-Schutzgruppe. In diesem Falle kann die Spaltungsreaktion in ausgezeichneter Ausbeute (bis 90%) im Eintopfverfahren durchgeführt werden. N-Phtalyl-cephalosporin C (**10**) wird dabei in Methylenchlorid mit Pyridin in Lösung gebracht und hierauf sukzessive mit Trimethylchlorsilan, Phosphorpentachlorid, Methanol und wässriger Ameisensäure umgesetzt. Nach Zugabe der letzteren und Rückstellung des pH-Wertes auf 3,3 scheidet sich **1** analysenrein in fester Form ab und kann direkt abfiltriert werden. Aus dem Filtrat lässt sich N-Phtalyl-D- $\alpha$ -amino-adipinsäure- $\epsilon$ -methylester (**17b**) kristallin (Smp. 98–100°) isolieren. In der geschilder-

<sup>2)</sup> Die Einführung einer leicht entfernbaren Schutzgruppe am Kern ermöglichte Modifikationen an der Seitenkette von **2**, die uns in biologischer Hinsicht interessierten.

ten Reaktionsfolge entsteht vermutlich vorerst mit Trimethylchlorsilan der Di-trimethylsilylester von **10**, hierauf mit Phosphorpentachlorid das entsprechende Iminochlorid vom Typ I und daraus mit Methanol der Imino-methyläther vom Typ II. Gleichzeitig dürften mit Methanol bereits die Silylgruppen unter Bildung von Trimethylmethoxysilan abgespalten werden. Mit wässriger Ameisensäure kann schliesslich eine rasche hydrolytische Spaltung des Iminoäthers bewerkstelligt werden.

Die Reaktionsfolge liess sich auch in dieser Variante mit verschiedenen N-Schutzgruppen und schliesslich auch ohne eine solche, d. h. mit Cephalosporin C (**2**) selbst, durchführen. Im letzteren Falle konnten sowohl das Mono-Natriumsalz als auch die freie Verbindung im Eintopfverfahren mit Ausbeuten bis zu 76% d. Th. gespalten werden.

Der beschriebenen Methode, die es im vorliegenden Fall erlaubt, eine sekundäre Amidgruppe in Gegenwart hydrolytisch labiler Funktionen selektiv zu spalten, dürfte auch allgemeinere Bedeutung zukommen. Über entsprechende Versuche mit anderen, geeigneten Substraten beabsichtigen wir separat zu berichten.

Für die Ausführung der Mikroanalysen danken wir Dr. W. PADOWETZ und für die Aufnahme und Diskussion der NMR-, IR-, UV- und Massenspektren Dr. R. F. ZÜRCHER, Dr. H. FUHRER und Dr. H. HÜRZELER.

### Experimenteller Teil<sup>3)</sup>

Die *Schmelzpunkte* (KOFLER-Block) sind korrigiert. Die *Spektren* wurden wie folgt aufgenommen: *UV.-Spektren* mit CARY Mod. 14 M (angegebene Zahlen bedeuten nm ( $\epsilon$ ) von  $\lambda_{max}$ ); *IR.-Spektren* mit PERKIN-ELMER Mod. 221 (wichtigste Banden in  $\mu$ ,  $sh$  = Schulter); *NMR.-Spektren* mit VARIAN Mod. A 60 (60 MHz) oder HA 100 (100 MHz) ( $\delta$  in ppm bezogen auf Tetramethylsilan;  $s$  = Singlett,  $d$  = Doublett,  $t$  = Triplett,  $m$  = Multiplett,  $b$  = breit, unstrukturiert,  $AB$  =  $AB$ -System,  $J$  = Kopplungskonstante in Hz). Die *Dünnschichtchromatogramme* an Silicagel G wurden in den Systemen DS 1 = *n*-Butanol-Eisessig (10:1) gesättigt mit Wasser, DS 2 = *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (38:24:8:30), DS 3 = Benzol-Aceton (8:2), DS 4 = Benzol-Aceton (6:4) ausgeführt und, sofern nicht speziell angegeben, mit Jod entwickelt; Entwicklung mit Ninhydrin-Collidin: Besprühen mit einer Lösung aus 1 g Ninhydrin, 700 ml Alkohol, 28 ml 2,4,6-Collidin und 210 ml Eisessig und Erwärmen auf 90° während 5–10 Min. – *Übliche Aufarbeitung von Basen und Neutralstoffen* aus wasserfreien Reaktionsmedien: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen im angegebenen Lösungsmittel, Waschen mit 10-proz.  $K_2HPO_4$ -Lösung, Trocknen über  $Na_2SO_4$ , Eindampfen im Vakuum; resp. aus wasserhaltigen Reaktionsmedien: Befreien vom organischen Lösungsmittel im Vakuum, Extraktion der verbliebenen, wässrigen Phase bei pH 8 mit dem angegebenen, organischen Lösungsmittel, Waschen, Trocknen und Eindampfen der Extrakte wie oben. *Übliche Aufarbeitung von Säuren*: Extraktion der bei der Abtrennung der Basen und Neutralteile anfallenden, wässrigen Phase mit demselben organischen Lösungsmittel nach Ansäuern auf pH 2, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum. *Trocknen zur Analyse*: 1–2 Tage bei Raumtemperatur und 0,001 Torr.

**1. Einführung von Schutzgruppen.** – *N*-Phthalyl-cephalosporin-C-dibenzhydrilester (**11**). Eine Lösung von 470 g 88-proz.<sup>4)</sup> (0,87 Mol) Cephalosporin-C-Natriumsalz (**2**) in 5 l 10-proz.  $K_2HPO_4$ -Lösung und 2 l Aceton wurde bei pH 9,1 und 22° innerhalb 15 Min. mit einer Lösung von 300 g (1,37 Mol) *N*-Äthoxycarbonylphtalimid in Aceton versetzt und anschliessend 1 Std. bei 22° und pH 9,1 gerührt. Zur Einhaltung des pH gab man insgesamt 490 ml 50-proz.  $K_3PO_4$ -Lösung zu.

<sup>3)</sup> Unter technischer Assistenz von A. REUT und J. SCHAUB. Die Dünnschichtchromatogramme wurden in unserem Speziallabor unter Leitung von E. VON ARX ausgeführt. Den genannten Mitarbeitern sei auch an dieser Stelle bestens gedankt.

<sup>4)</sup> Mittels UV.-Extinktion ( $H_2O$ ) bestimmte Reinheit bezüglich eines umkristallisierten Materials: 261 (8600) = 100%.

Übliche Aufarbeitung auf Säuren mit Essigester ergab 568 g praktisch farblosen Schaum, der, mit Äther digeriert, 506,6 g amorphes *N*-Phtalyl-cephalosporin C (**10**) lieferte (Charakterisierung siehe unten).

506 g davon wurden in 5 l Dioxan-Methanol (8:2) gelöst, innerhalb 10 Min. mit einer filtrierten Lösung von 400 g (2,0 Mol) krist. Diphenyldiazomethan in 2,8 l Petroläther versetzt und 1 Std. bei 22° gerührt. Eindampfen zur krist. Masse, Digerieren mit Petroläther-Äther (1:1) und Kristallisation aus Methylenchlorid-Essigester lieferte insgesamt 574 g *N*-Phtalyl-cephalosporin-*C*-dibenzhydrilester (**11**). Nach Umkristallisation aus Tetrahydrofuran-Methanol (1:5) erhielt man feine, zu Büscheln vereinigte, farblose Nadeln. Smp. 161–163°; Rf = 0,48 (DS 3);  $[\alpha]_D^{20} = +17^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>). UV. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 265 (9800), 242 (16800). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Nujol): typische Banden bei 2,91/3,04 (–NH–), 5,59/5,64 (Lactam), 5,74/5,73 (Ester), 5,79/5,83 (Ester, Phtalimid), 5,89/6,02 (Amid I), 6,67/6,45 (Amid II). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,66 (*m*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 1,93 (*s*/CH<sub>3</sub>CO–), 2,23 (*m*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 3,16/3,36 (*AB*/*J* = 18,5/–SCH<sub>2</sub>–), 4,69/4,95 (*AB*/*J* = 14/–CH<sub>2</sub>O–), 4,83 (*d*/*J* = 5/*H*-6), 4,91 (*t*/*J* = 6,5/*N*–CH<sub>2</sub>– $\begin{matrix} \text{C} \\ \diagup \\ \text{COO} \end{matrix}$ ), 5,73 (*dd*/*J* = 8,5 und 5/*H*-7), 6,58 (*d*/*J* = 8,5/–NH–), 6,83 (*s*–OCH<), 6,89 (*s*–OCH<), 7,15/7,21/7,28 (*m*/20 arom. H), 7,67/7,73 (*m*/4 arom. H).

C <sub>50</sub> H <sub>43</sub> N <sub>3</sub> O <sub>10</sub> S (877,97)	Ber. C 68,40	H 4,94	N 4,79	S 3,65%
	Gef. „ 68,11	„ 5,00	„ 4,85	„ 3,80%

**11** liess sich wie folgt in **10** zurückverwandeln: 50 g Diester **11** (57 mMol) wurden in 150 ml Trifluoressigsäure und 50 ml Anisol gelöst und nach 10 Min. bei 0,5 Torr eingedampft. Der mit Essigester wie üblich aufgearbeitete Neutralteil enthielt den Benzhydrylrest in Form des *p*-Methoxyphenyl-diphenyl-methans (29,2 g Kristalle aus Methanol, Smp. 59–61°). Übliche Aufarbeitung der Säure mit Essigester gab nach Digerieren mit Äther 32,1 g Verb. **10**. 1 g davon wurde an 30 g Silicagel chromatographiert. Chloroform-Essigester (8:2) eluierte 776 mg chromatographisch einheitliches, amorphes *N*-Phtalyl-cephalosporin C (**10**). Rf = 0,24 (DS 1);  $[\alpha]_D^{20} = +90^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , 0,5 N NaHCO<sub>3</sub>). UV. (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH): 265 (8200), 219 (42800). IR. (Nujol): 3,02 (–NH–), 5,64 (Lactam), 5,75 *sh* (Ester), 5,85 (Imid), 6,12 und 6,52 (Amid).

*N*-Phtalyl-cephalosporin-*C*-9-benzhydrilester (**12**). Eine Lösung von 4,25 g *N*-Phtalyl-cephalosporin C (**10**) in 200 ml Dioxan wurde mit 20 ml ca. 10-proz. Diphenyldiazomethan-Lösung in Petroläther versetzt und 1/2 Std. bei 22° reagieren gelassen. Eindampfen im Vakuum und Chromatographieren an 75 g Silicagel gab in den mit Chloroform eluierten Fraktionen 1,90 g *N*-Phtalyl-cephalosporin-*C*-9-benzhydrilester (**12**), der aus Aceton-Äther kristallisierte. Nach Umkristallisation aus Tetrahydrofuran-Methanol-Wasser, Smp. 106–108°; Rf = 0,72 (DS 1), 0,68 (DS 2);  $[\alpha]_D^{20} = +40^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>). UV. (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH): 263 (8300). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Nujol): 2,94/3,07 (–NH–), 5,59/5,65 (Lactam), 5,75 *sh*/5,76 *sh* (Ester), 5,80/5,85 (Ester, Imid), 5,92 *sh*/6,03 (Amid I), 6,67/6,49 (Amid II). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,64 (*b*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 1,94 (*s*/CH<sub>3</sub>CO–), 2,23 (*b*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 3,21/3,40 (*AB*/*J* = 19/–SCH<sub>2</sub>–), 4,69/4,95 (*AB*/*J* = 13,5/–CH<sub>2</sub>O–), 4,81 (*t*/*J* = 7,5/*N*–CH<sub>2</sub>– $\begin{matrix} \text{C} \\ \diagup \\ \text{COO} \end{matrix}$ ), 4,85 (*d*/*J* = 5/*H*-6), 5,73 (*dd*/*J* = 8,0 und 5/*H*-7), 6,28 (*s*–COOH, –NH–), 6,87 (*s*–OCH<), 7,27 (*m*/10 arom. H), 7,64/7,72 (*m*/4 arom. H). Löslichkeit in Phosphatpuffer pH 8: < 1%.

C <sub>37</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>10</sub> S (711,75)	Ber. C 62,44	H 4,67	N 5,90	S 4,50%
	Gef. „ 62,20	„ 4,80	„ 5,93	„ 4,48%

*N*-Phtalyl-cephalosporin-*C*-9-benzhydrilester-1'-methylester (**13**). 3 g (4,22 mMol) Benzhydryl-ester **12** gelöst in 50 ml Dioxan, wurden mit überschüssigem Diazomethan verestert (10 Min., 22°) und mit Chloroform-Äther (1:3) wie üblich aufgearbeitet. Chromatographie der erhaltenen 2,99 g an Silicagel gab in den mit Toluol-Aceton (9:1) eluierten Fraktionen 2,14 g gemischten Diester **13**, der aus Toluol-Aceton (95:5) kristallisierte (1,51 g). Smp. 103–105°; Rf = 0,59 (DS Toluol-Aceton 6:4);  $[\alpha]_D^{20} = +13^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>). UV. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 265 (8650). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Nujol): 2,92/3,06 (–NH–), 5,61/5,65 (Lactam), 5,75 *sh*/5,75 (Ester), 5,82/5,83 (Ester, Imid), 5,91 *sh*/6,03 (Amid I), 6,68/6,49 (Amid II). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,62 (*m*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 1,95 (*s*/CH<sub>3</sub>CO–), 2,18/2,25 (*m*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 3,23/3,42 (*AB*/*J* = 18,5/–SCH<sub>2</sub>–), 3,65 (*s*–COOCH<sub>3</sub>), 4,70/4,97 (*AB*/*J* =

14/(-CH<sub>2</sub>O-), 4,80 ( $t/J = 7,0/N-CH \begin{matrix} C \\ \diagdown \\ COO \end{matrix}$ ), 4,86 ( $d/J = 5/H-6$ ), 5,76 ( $dd/J = 8,5$  und  $5/H-7$ ), 6,76 ( $d/J = 8,5/-NH-$ ), 6,89 ( $s/-OCH \begin{matrix} C \\ \diagdown \\ COO \end{matrix}$ ), 7,28 ( $m/10$  arom. H), 7,70/7,77 ( $m/4$  arom. H).

$C_{38}H_{35}N_3O_{10}S$  Ber. C 62,89 H 4,86 N 5,79 S 4,42%  
(727,77) Gef. „ 62,61 „ 4,85 „ 5,93 „ 4,56%

*N-t-Butyloxycarbonyl-cephalosporin-C-dibenzylester* (4). Eine Lösung von 9,46 g 85-proz. (17 mMol) Cephalosporin-C-Natriumsalz (2) in 300 ml 5-proz. K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> und 200 ml Aceton wurde mit 8,6 g (60 mMol) *t*-Butyloxycarbonylazid versetzt und 18 Std. bei 22° und pH 9,0–9,5 gerührt. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von 25-proz. K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> eingehalten. Man arbeitete mit Essigester wie üblich, aber in der Kälte und bei pH 2,5 auf und erhielt 9,10 g *N-t-Butyloxycarbonyl-cephalosporin C* (3) als farblosen Schaum. Rf = 0,30 (DS 1); UV. (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH): 261 (7000). Insgesamt 31 g (60 mMol) analog bereitete Verb. 3 wurden bei 20° mit einer Lösung von 120 mMol Phenyl diazomethan in 900 ml Petroläther zur Reaktion gebracht und nach 1 Std. mit Chloroform-Äther (1:3) in der Kälte wie üblich aufgearbeitet. Digerieren der erhaltenen 49,8 g Rohprodukt mit Petroläther und Kristallisation aus Aceton-Äther gab 28,0 g *N-t-Butyloxycarbonyl-cephalosporin-C-dibenzylester* (4). Nach Umkristallisation aus Tetrahydrofuran-Methanol-Wasser (5:25:7) und Tetrahydrofuran-Äther-Petroläther (1:5:2), Smp. 87–88°; Rf = 0,82 (DS 1), 0,72 (DS 4), 0,35 (Toluol-Aceton 8:2);  $[\alpha]_D^{20} = +33° \pm 1°$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>). UV. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 264 (8400). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,94 (-NH-), 5,61 (Lactam), 5,77–5,93 (breit, Ester und Amid I), 6,67 (Amid II); (Nujol): 3,01/3,03 (-NH-), 5,63 (Lactam), 5,70/5,81 (Ester), 5,94 (Urethan), 6,06 (Amid I), 6,57 (Amid II). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,38 ( $s/(CH_2)_3C-$ ), 1,72 ( $b/-CH_2CH_2CH_2-$ ), 2,00 ( $s/(CH_3CO-)$ ), 2,22 ( $b/-CH_2CO-$ ), 3,29/3,47 ( $AB/J = 18,5/-SCH_2-$ ), 4,25 ( $b/-OCO-NH-$ ), 4,75/5,03 ( $AB/J = 13,5/-CH_2O-$ ), 4,86 ( $d/J = 4,5/H-6$ ), 5,11 ( $s/-COO-CH_2-C_6H_5$ ), 5,21 ( $AB/J = 12/-COO-CH_2-C_6H_5$ ), 5,73 ( $dd/J = 8,5$  und  $4,5/H-7$ ), 6,86 ( $d/J = 8,5/-NH-$ ), 7,31 ( $m/10$  arom. H).

$C_{35}H_{41}N_3O_{10}S$  Ber. C 60,42 H 5,94 N 6,04 S 4,61%  
(695,78) Gef. „ 60,61 „ 6,13 „ 6,13 „ 4,59%

*Cephalosporin-C-dibenzhydrylester* (8). Eine Suspension von 4,82 g 85-proz. (8,7 mMol) Cephalosporin-C-Natriumsalz (2) in 80 ml Methanol wurde mit 16,7 ml 1,5N methanolischer HCl versetzt und die nunmehr klare Lösung bei 0,1 Torr eingedampft. Der Rückstand (6,02 g) enthielt rohes *Cephalosporin-C-hydrochlorid*, das anschliessend in 100 ml Dimethylformamid gelöst und mit 10 g (52 mMol) Diphenyldiazomethan 20 Min. bei 20° verestert wurde. Eindampfen, Digerieren gab 7,26 g (ca. 70-proz.) *Cephalosporin-C-dibenzhydrylester* (8) als farblosen Schaum. Rf = 0,65 (DS 1), 0,78 (DS 2), 0,12 (Toluol-Aceton 7:3), typisch rot-violetter Fleck mit Ninhydrin-Collidin. IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 5,60 (Lactam), 5,75 (Ester), 5,93 (Amid).  $pK_{MCS}^*$  = 6,35.

**2. Spaltung durch intramolekulare Aminolyse.** – *7-Aminocephalosporansäure-benzylester* (6) und *Piperidon-(6)-carbonsäure-(2)-benzylester* (18a). 6,95 g (10 mMol) *N-t-Butyloxycarbonyl-cephalosporin-C-dibenzylester* (4) wurden in 70 ml Trifluoressigsäure gelöst und nach 5 Min. bei Raumtemperatur im Vakuum eingedampft. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther (1:3) ergab 5,97 g dünn-schichtchromatographisch reinen, amorphen *Cephalosporin-C-dibenzylester* (5). Rf = 0,51 (DS 1), 0,18 (DS 4), rot-violetter Fleck mit Ninhydrin-Collidin. IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 5,62 (Lactam), 5,78 (Ester), 5,94 (Amid). Das Material wurde umgehend in 1 l Methylenchlorid gelöst, mit 1 ml H<sub>2</sub>O und 1 ml Pyridin-Eisessig (2:1) versetzt und 8 Tage bei 22° stehengelassen. Nach Eindampfen wurde eine Chloroform-Äther-(1:3)-Lösung des Rückstandes mit 0,3M Phosphatpuffer pH 3,3 und hierauf mit 5-proz. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ausgeschüttelt. Die 3 Auszüge, welche *7-Aminocephalosporansäure-benzylester* (6) (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-Extrakt), *Piperidon-(6)-carbonsäure-(2)-benzylester* (18a) (Chloroform-Äther-Extrakt) und Ausgangsmaterial 5 (Puffer-Extrakt) enthielten, wurden wie folgt aufgearbeitet:

1. Der H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-Extrakt wurde bei pH 6 mit Essigester extrahiert. Er enthielt 1,75 g dünn-schichtchromatographisch einheitlichen Ester 6, der jedoch auch nach Chromatographie an 35 g Silicagel (Elution mit Toluol-Essigester (2:1): 1,43 g) nicht kristallisierte. Rf = 0,60 (DS 1), 0,59 (DS 4);  $[\alpha]_D^{20} = +4° \pm 1°$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>). UV. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 267 (7000). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 5,58 (Lactam), 5,74 (Ester). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,99 ( $s/CH_3CO-$ ), 2,22 ( $s/-NH-$ ), 3,31/3,49 ( $AB/J =$

<sup>5)</sup> Titrationsbedingungen nach SIMON *et al.* [10].

18,5[-SCH<sub>2</sub>-], 4,67 (*d*/*J* = 5,0/H-6 oder H-7), 4,74/5,00 (*AB*/*J* = 14/-CH<sub>2</sub>O-), 4,85 (*d*/*J* = 5,0/H-6 oder H-7), 5,19/5,24 (*AB*/*J* = 12,5/-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7,23 (*m*/5 arom. H).

Molekulargewicht<sup>6)</sup>: ber. 362,0936; gef. 362,0921.

Das Produkt war frei von der deutlich unterscheidbaren Isoverbindung **14**, die man wie folgt bereitete: 300 mg Verb. **6** wurden in 10 ml Pyridin 10 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Der Eindampfrückstand gab beim Chromatographieren an 18 g Silicagel in den mit Toluol-Essigester (1:1) eluierten Fraktionen 91 mg amorphen *iso*-7-Aminocephalosporansäure-benzylester (**14**). Rf = 0,72 (DS 1), 0,53 (DS 4), gelber Fleck mit Ninhydrin-Collidin;  $[\alpha]_D^{20} = +360 \pm 1^\circ$  (*c* = 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). UV. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 250 (6300). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 5,63 (Lactam), 5,75 (Ester).

Zur weiteren Charakterisierung von **6** wurde das kristalline Derivat **7** hergestellt: 400 mg (ca. 1,1 mMol) Verb. **6** wurden in 5 ml Methylenchlorid gelöst, mit 50 mg (0,6 mMol) Pyridin und einer Lösung von 126 mg (1,2 mMol) β-Chloräthylisocyanat [11] in 5 ml Methylenchlorid versetzt. Nach 17 Std. Stehen bei 22° wurde mit Chloroform-Äther (1:3) wie üblich aufgearbeitet und 461 mg Neutralteil erhalten. Aus Aceton-Äther kristallisierten 224 mg 7-(β-Chloräthylcarbamoyl-amino)-cephalosporansäure-benzylester (**7**). Nach Umkristallisation Smp. 175–177°; Rf = 0,61 (DS 4);  $[\alpha]_D^{20} = +11^\circ \pm 1^\circ$  (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>). UV. (CHCl<sub>3</sub>): 264 (8100). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 5,61 (Lactam), 5,76 (Ester), 5,91 (Amid I), 6,53 (Amid II). Dieselben Eigenschaften wies ein Produkt auf, das durch Verestern von 7-(β-Chloräthylcarbamoyl-amino)-cephalosporansäure (Smp. 164–168°, Rf = 0,45 (DS 1)) mit Phenyl diazomethan erhalten worden war. Diese Säure hatte man aus **1** durch Kondensation mit β-Chloräthylisocyanat gewonnen.

2. Der Chloroform-Äther-Extrakt gab nach Trocknen und Eindampfen 2,31 g Rohprodukt, das an 70 g Silicagel chromatographiert wurde. Mit Chloroform eluierte man 1,26 g (54% d. Th.) einheitlichen (+) Piperidon-(6)-carbonsäure-(2)-benzylester (**18a**). Aus Äther 1,00 g feine Nadeln, Smp. 68–69°; Rf = 0,65 (DS 1), 0,08 (Toluol-Aceton 8:2);  $[\alpha]_D^{20} = +17^\circ \pm 1^\circ$  (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,91 (-NH-), 5,72 (Ester), 5,91 (Lactam). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,80 (*m*[-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-]), 2,30 (*t*/*J* = 6,5/-CH<sub>2</sub>CO-), 4,08 (*m*[-CH<N<CO]), 5,13 (*AB*/*J* = 12,5/-OCH<sub>2</sub>-), 6,69 (*s*[-NH-]), 7,30 (*s*/5 arom. H).

C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> (233,26) Ber. C 66,93 H 6,48 N 6,01% Gef. C 66,66 H 6,41 N 6,08%

3. Der Puffer-Extrakt lieferte nach Extraktion mit Essigester bei pH 8,5 56 mg Rückstand, der nach IR. und Dünnschichtchromatogramm Ausgangsmaterial **5** enthielt.

7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (**9**) und Piperidon-(6)-carbonsäure-(2)-benzhydrylester (**18b**). 5,24 g ca. 70-proz. (4,9 mMol) Cephalosporin-C-dibenzhydrylester (**8**) wurden in 1 l mit H<sub>2</sub>O gesättigtem Methylenchlorid gelöst, mit 250 mg (2 mMol) Benzoesäure versetzt und 11 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Das eingedampfte Gemisch wurde nach dem Gegenstromprinzip im Tropftrichter zwischen den beiden Phasen eines Gemisches von Toluol-Essigester-Alkohol-2N HCl (3:1:2:2) verteilt. Die je 5 Ober- und Unterphasen wurden separat aufgearbeitet: Die Oberphasen enthielten Verb. **18b** (siehe unten).

Die Unterphasen lieferten nach üblicher Aufarbeitung mit Essigester 950 mg eines Gemisches von 7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (**9**), Rf = 0,31 (Toluol-Essigester 1:1), und *iso*-7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (**15**), Rf = 0,23 (Toluol-Essigester 1:1), im Verhältnis von ca. 1:1, beides gelbe Flecke mit Ninhydrin-Collidin. Das Gemisch gab beim Abspalten der Estergruppe mit Trifluoressigsäure-Anisol (siehe unten) 197 mg (15% d. Th.) reine 7-Aminocephalosporansäure (**1**). *Iso*-7-Aminocephalosporansäure (**16**) wurde unter diesen Bedingungen nicht gefasst.

Zum Vergleich wurden die beiden *iso*-Verbindungen **15** und **16** wie folgt hergestellt: Eine Lösung von 5 g 7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (**9**) in 250 ml Pyridin wurde 5 Tage bei 22° stehengelassen. Eindampfen und Chromatographie an 200 g Silicagel gab in den mit Toluol-Essigester (2:1) eluierten Fraktionen 1,56 g dünn-schichtchromatographisch reinen, jedoch amorphen *iso*-Ester **15**. Rf = 0,23 (Toluol-Essigester 1:1), gelber Fleck mit Ninhydrin-Collidin;  $[\alpha]_D^{20} = +325 \pm 1^\circ$  (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>). UV. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 252 (7750). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 5,65 (Lactam), 5,75 (Ester).

1,06 g Verbindung **15** wurden 5 Min. mit 5 ml Trifluoressigsäure und 1 ml Anisol stehengelassen. Man dampfte ein, digerierte mehrmals mit Äther, löste in 15 ml Pyridin und dampfte erneut ein.

<sup>6)</sup> Massenspektrometer: CONSOLIDATED ELECTRODYNAMICS CORP., Modell 21-110 B.

Digerieren mit Aceton gab 256 mg *iso*-7-Aminocephalosporansäure (**16**) als farbloses Pulver.  $R_f = 0,48$  (DS 2), bräunlich-gelber Fleck mit Ninhydrin-Collidin;  $[\alpha]_D^{20} = +551^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , 0,5N NaHCO<sub>3</sub>). UV. (0,1N NaHCO<sub>3</sub>): keine spezifische Absorption, Schultern bei ca. 245 und 230. IR. (Nujol): 3,12 (H<sub>3</sub>N<sup>+</sup>), 5,66 (Lactam), 5,83 (Ester), 6,13 (Carboxylat).

Die *Oberphasen* lieferten beim Eindampfen 4,39 g Rohprodukt, wovon 2,82 g an 85 g Silicagel chromatographiert wurden. Die mit Chloroform eluierten Fraktionen enthielten 470 mg (+)-Piperidon-(6)-carbonsäure-(2)-benzhydrylester (**18b**) als harzigen Rückstand.  $[\alpha]_D^{20} = +9^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>). Ein hinsichtlich Dünnschichtchromatogramm, UV. und IR. identisches, allerdings racemisches Produkt wurde durch Verestern von DL- $\alpha$ -Amino-adipinsäurelactam (Smp. 172–175°) mit Diphenyldiazomethan erhalten: Kristalle aus Äther, Smp. 116–117°;  $R_f = 0,72$  (DS 1). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,94 (–NH–), 5,74 (Ester), 5,99 (Lactam). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz): 1,67–2,44 (*m*–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 4,17 (*m* / >CHCO–), 6,78 (*m* / –NH–), 6,95 (*s* / >CHO–), 7,34 (*s* / 10 arom. H).

C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub> (309,35) Ber. C 73,76 H 6,19 N 4,53% Gef. C 73,91 H 6,08 N 4,54%

**3. Spaltung via Iminomethyläther.** – 7-Aminocephalosporansäure (**1**). Eine Lösung von 44 g (50 mMol) N-Phtalyl-cephalosporin-C-dibenzhydrylester (**11**) und 50 ml (0,6 Mol) abs. Pyridin in 1,3 l abs. Methylenchlorid<sup>7)</sup> wurde unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre bei –20° mit einer Lösung von 31,2 g (0,15 Mol) PCl<sub>5</sub> in 500 ml abs. Methylenchlorid innerhalb 10 Min. versetzt und anschliessend 45 Min. bei –12° gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde darauf mit 320 ml (8 Mol) kaltem, abs. Methanol versetzt, während 30 Min. bei –10°, während 1 Std. bei +20° und schliesslich nach Zugabe von 1,1 l 1N HCl 45 Min. bei +20° gerührt. Hierauf stellte man das Reaktionsgemisch mit 80 ml 50-proz. K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> und ca. 855 ml 2N NaOH auf pH 7,9, trennte die Phasen und extrahierte mit 600 ml Methylenchlorid nach. Trocknen mit 150 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen bei 5 Torr gab 58,6 g eines öligen Rückstandes, der den rohen Ester **9** (Reindarstellung siehe unten) enthielt. Er wurde bei –15° in 25 ml (0,23 Mol) Anisol und 75 ml (1,0 Mol) Trifluoressigsäure gelöst und 20 Min. bei 22° stehengelassen. Dann gab man diese Lösung innerhalb 2 Min. zu 900 ml kaltem (–10°) Methanol und neutralisierte das Gemisch gleichzeitig und fortlaufend durch Zugabe von insgesamt ca. 120 ml Triäthylamin (pH = 3,5 in mit H<sub>2</sub>O verdünnten Proben). Filtration nach 2 Std. Stehen bei 0°, Waschen mit Methanol, Methylenchlorid (löst eingeschlossenes *p*-Methoxyphenyl-diphenylmethan) und Äther gab 11,12 g (81,5% d. Th.) 7-Aminoccephalosporansäure (**1**) als nahezu farbloses Pulver. Smp. >200° (Zers.);  $R_f = 0,08$  (DS 1), 0,40 (DS 2), typisch schmutzig-gelber Fleck mit Ninhydrin-Collidin;  $[\alpha]_D^{20} = +114^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , 0,5N NaHCO<sub>3</sub>). UV. (0,1N NaHCO<sub>3</sub>): 261 (8500).

Zur vollständigen Charakterisierung von **1** wurde das N-Phenylacetyl-Derivat dargestellt: Eine Lösung von 27,2 g (0,10 Mol) **1** und 25,1 ml (0,18 Mol) Triäthylamin in 320 ml Methylenchlorid wurde bei –15° innerhalb von 2 Std. zu einer Lösung von 17 g (0,11 Mol) Phenylacetylchlorid in 200 ml Methylenchlorid getropft. Man rührte anschliessend 2 Std. bei –15° und 1½ Std. bei 20°. Übliche Aufarbeitung auf Säuren mit Essigester gab 38,6 g Rohprodukt, das in Aceton-Methylenchlorid-(1:4)-Lösung durch Silicagel filtriert und hierauf eingedampft wurde. Der Rückstand kristallisierte aus Methylacetat-Aceton-Cyclohexan: 31,5 g 7-Phenylacetamidocephalosporansäure. Smp. 168–169° (Zers.);  $R_f = 0,42$  (DS 1), 0,62 (DS 2);  $[\alpha]_D^{20} = +86^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , Dioxan). UV. (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH): 260 (7450), 233 (5250). IR. (Nujol): 5,61 (Lactam), 5,75 (Ester), 6,02 (Amid I), 6,51 (Amid II). NMR. ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 100 MHz): 1,98 (*s* / CH<sub>3</sub>CO–), 3,48 (*AB* / *J* = 15 / –CH<sub>2</sub>CO–), 3,49 (*AB* / *J* = 20 / –CH<sub>2</sub>S–), 4,63/4,93 (*AB* / *J* = 12,5 / –CH<sub>2</sub>O–), 5,01 (*d* / *J* = 4,5 / H-6), 5,63 (*dd* / *J* = 8,5 und 4,5 / H-7), 7,22 (*s* / 5 arom. H), 9,02 (*d* / *J* = 8,5 / –NH–).  $pK_{MCS}^* = 4,78$ .

C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S Ber. C 55,38 H 4,65 N 7,18 S 8,21%  
(390,41) Gef. „ 55,37 „ 4,45 „ 7,07 „ 8,39%

7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (**9**) und N-Phtalyl-D- $\alpha$ -aminoadipinsäure-benzhydrylester-*e*-methylester (**17a**). Zur Darstellung der reinen Spaltprodukte wurden 14,4 g Rohester **9** (analog dem vorstehenden Beispiel aus 10 g **11** hergestellt) nach dem Gegenstromprinzip in 3 Tropftrichtern zwischen den beiden Phasen des Gemisches Toluol-Essigester-Alkohol-2N HCl (3:1:2:2) verteilt (3 Ober- und 5 Unterphasen).

Die vereinigten *Unterphasen* wurden im Vakuum vom Alkohol befreit und bei pH 6,0 mit Toluol-Essigester (3:1) extrahiert. Dieser Extrakt (7,31 g) enthielt den 7-Aminocephalosporan-

<sup>7)</sup> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und destilliert, mittels IR. (1-mm-Zelle, ohne Kompensation) bestimmte Restgehalte: H<sub>2</sub>O < 0,005% (6,25  $\mu$ ), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH < 0,01% (9,59  $\mu$ ).

säure-benzhydrylester (9), der aus Äther kristallisierte. Das Kristallisat wurde in Toluol-Essigester (2:1) durch die 20fache Menge Silicagel filtriert und eingedampft. Kristallisation aus Tetrahydrofuran-Äther (1:5) lieferte Nadeln vom Smp. 126–127°. Rf = 0,65 (DS 1), 0,74 (DS 2), 0,39 (Toluol-Aceton 7:3), 0,33 (Toluol-Aceton 8:2), mit Ninhydrin-Collidin gelber Fleck;  $[\alpha]_D^{20} = +4^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). UV. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ): 265 (7300). IR. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Nujol): 2,94/2,93 (–NH–), 5,63/5,67 (Lactam), 5,77/5,80 (Ester). NMR. ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 1,73 (s/–NH<sub>2</sub>), 1,95 (s/CH<sub>3</sub>CO–), 3,29/3,48 (A/B/J = 18,5/–SCH<sub>2</sub>–), 4,66 (d/J = 5/H-7), 4,69/4,93 (A/B/J = 13/–CH<sub>2</sub>O–), 4,84 (d/J = 5/H-6), 6,92 (s/–OCH<), 7,29 (m/10 arom. H). Massenspektrum<sup>8)</sup>: Molekel-Pik bei 438.  $pK_{\text{MCS}}^* = 3,47$ .

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$	Ber. C 63,00	H 5,06	N 6,39	S 7,31%
(438,50)	Gef. „ 63,13	„ 5,16	„ 6,43	„ 7,35%

Aus den vereinigten Oberphasen erhielt man nach Trocknen und Eindampfen 6,5 g Neutralteil, der an 150 g Silicagel chromatographiert wurde. Die mit Toluol-Aceton (97:3) eluierten Fraktionen enthielten 5,12 g einheitlichen *N*-Phtalyl-D- $\alpha$ -aminoadipinsäure-benzhydrylester- $\epsilon$ -methylester (17a), der aus Petroläther kristallisierte (4,59 g). Smp. 66–68°; Rf = 0,47 (Toluol-Aceton 9:1);  $[\alpha]_D^{20} = -3^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). UV. ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ): 295 (2100). IR. (Nujol): 5,66/5,75/5,83 (Ester und Imid). NMR. ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 1,65 (m/–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 2,31 (m/–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 3,56 (s/CH<sub>3</sub>OOC–), 4,90 (t/J = 8/–N–CH<), 6,84 (s/–OCH<), 7,17/7,23 (m/10 arom. H), 7,69/7,76 (m/4 arom. H). Massenspektrum<sup>8)</sup>: Molekulargewicht ber. 471,1681, gef. 471,1672.

$\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{NO}_6$ (471,51)	Ber. C 71,32	H 5,34	N 2,97%	Gef. C 71,24	H 5,37	N 3,06%
--	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

Zur weiteren Charakterisierung wurden 2 g (4,25 mMol) 17a in 20 ml Trifluoressigsäure-Anisol (4:1) 10 Min. bei Raumtemperatur stehengelassen und hierauf mit Essigester wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand (1,47 g) gab nach Kristallisation aus Petroläther 1,24 g *N*-Phtalyl-D- $\alpha$ -aminoadipinsäure- $\epsilon$ -methylester (17b), der in allen physikalisch-chemischen Eigenschaften mit dem direkt aus 10 erhaltenen Produkt (vgl. S. 1118) übereinstimmte.

Umsatz von 500 mg 17b mit überschüssigem Diazomethan in Äther lieferte nach üblicher Aufarbeitung mit Chloroform-Äther (1:3) 555 mg amorphen *N*-Phtalyl-D- $\alpha$ -aminoadipinsäure-dimethylester (17c);  $[\alpha]_D^{20} = +31^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Dieses Material erwies sich hinsichtlich UV., IR. und Dünnschichtchromatogramm als identisch mit aus DL- $\alpha$ -Aminoadipinsäure hergestelltem *N*-Phtalyl-DL- $\alpha$ -aminoadipinsäure-dimethylester: 8,1 g (50 mMol) DL- $\alpha$ -Aminoadipinsäure wurden in 200 ml 0,5M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> und 100 ml Aceton gelöst, bei pH 9 mit einer Lösung von 13,2 g (60 mMol) *N*-Äthoxycarbonylphtalimid in 100 ml Aceton zur Reaktion gebracht und mit Essigester wie üblich aufgearbeitet. Von 13,5 g Rohprodukt kristallisierten aus Essigester-Petroläther nach Digerieren mit Äther 9,62 g *N*-Phtalyl-DL- $\alpha$ -aminoadipinsäure, Smp. 232–233°; Rf = 0,65 (DS 1). UV. ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ): 295 (2000). IR. (Nujol): 5,84.

1,6 g davon wurden mit Diazomethan umgesetzt und gaben nach üblicher Aufarbeitung mit Äther und Kristallisation aus Petroläther 1,84 g *N*-Phtalyl-DL- $\alpha$ -aminoadipinsäure-dimethylester, Smp. 55–57°; Rf = 0,72 (DS 1). UV. ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ): 294 (2000). IR. (Nujol): 5,67/5,72/5,86 (Ester und Imid). NMR. ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 1,65 (m/–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 2,27 (m/–CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>–), 3,59 (s/CH<sub>3</sub>OOC–), 3,68 (s/CH<sub>3</sub>OOC–), 4,82 (t/J = 7,5/–N–CH<), 7,76/7,81 (m/4 arom. H).

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_6$ (319,30)	Ber. C 60,18	H 5,37	N 4,39%	Gef. C 60,23	H 5,40	N 4,44%
--	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

Spaltung von *N*-Phtalyl-cephalosporin-C-9-benzhydrylester-1'-methylester (13). Entsprechend dem vorstehend beschriebenen Beispiel wurden 726 mg (1 mMol) 13 der Amidspaltung unterworfen: Aus dem Alkohol-2N HCl-Auszug (Unterphasen) erhielt man 445 mg Extrakt, der nach Chromatographie an 10 g Silicagel in den mit Toluol-Essigester (2:1) eluierten Fraktionen 316 mg 7-Aminocephalosporansäure-benzhydrylester (9) enthielt (Kristalle aus Tetrahydrofuran-Äther, Smp. 125–127°).

Durch Chromatographie des aus dem Toluol-Essigester-Auszug (Oberphasen) gewonnenen Neutralteiles (425 mg) an 15 g Silicagel erhielt man beim Eluieren mit Toluol-Aceton (98:2) 271 mg amorphen *N*-Phtalyl-D- $\alpha$ -aminoadipinsäure-dimethylester (17c);  $[\alpha]_D^{20} = +30^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

Spaltung von *N*-Phtalyl-cephalosporin C (10) unter Verwendung der Trimethylsilyl-Schutzgruppe. Eine Aufschlammung von 12,065 g 86-proz. *N*-Phtalyl-cephalosporin C (10) (entsprechend

<sup>8)</sup> Massenspektrometer: ATLAS Modell CH 4.

19,05 mMol Reinprodukt) in 700 ml abs. Methylchlorid wurde unter Rühren mit 11,5 ml (143 mMol) abs. Pyridin und 17,8 ml (151 mMol) Trimethylchlorsilan<sup>9)</sup> versetzt. Man liess die klare hellgelbe Lösung während 2 Std. bei 30° unter Feuchtigkeitsausschluss ausreagieren. Nach erneuter Zugabe von 22,3 ml (0,3 Mol) abs. Pyridin wurden 145 ml einer 10-proz. Lösung von Phosphorpentachlorid (75,2 mMol) in abs. Methylchlorid zulaufen gelassen, wobei die Innentemperatur durch gute Kühlung unter -12° gehalten wurde. Die klare Reaktionslösung wurde 40 Min. bei dieser Temperatur belassen, wobei sie eine braungelbe Färbung annahm. Hierauf liess man 300 ml (7,42 Mol) abs. Methanol zufließen und rührte während 30 Min. bei -10°. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur liess man die goldgelbe Lösung 30 weitere Min. stehen, bevor 40 ml 50-proz. wässrige Ameisensäure zugegeben wurden. Das pH des Reaktionsgemisches wurde durch Zugabe von Triäthylamin (10,1 ml) auf 2,0 eingestellt (Glaselektrode). Die erhaltene Suspension wurde nach 45 Min. leichtem Rühren bei Raumtemperatur zur Erzielung eines pH-Wertes von 3,3 mit ca. 40 ml Triäthylamin versetzt. Durch Filtration nach 90 Min. Stehenlassen im Eisbad und mehrmaliges Spülen mit Methylchlorid und Äther wurden 4,589 g schwach cremefarbige 7-Aminocephalosporinsäure (**1**) erhalten, welche dünnschichtchromatographisch mit dem Produkt aus Verbindung **11** identisch war. UV. (0,1N NaHCO<sub>3</sub>): 263 (8150). Ausbeute 85%.

C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	Ber. C 44,11	H 4,44	N 10,29	S 11,62%
(272,28)	Gef. „ 43,83	„ 4,52	„ 10,18	„ 11,78%

Das Filtrat wurde fast bis zur Trockene eingedampft und durch Digerieren mit Aceton und nachfolgende Filtration von den organischen Salzen weitgehend befreit. Nach dem Abdampfen des Acetons und Aufnehmen des Rückstandes in Wasser liessen sich die neutralen Bestandteile bei pH 7,5 durch Essigester extrahieren. Die abgespaltene Seitenkette wurde in der Form des sauren Methylesters **17b** bei pH 2 durch Essigester extrahiert: 4,45 g. Chromatographie an der ca. 50-fachen Menge Silicagel lieferte in der Methylchlorid-Essigester-(99:1)-Eluat *N*-Phtalyl-D- $\alpha$ -aminoadipinsäure-*ε*-methylester (**17b**), welcher nach dem Eindampfen allmählich durchkristallisierte. Kristallisation aus Methylchlorid und Cyclohexan ergab wasserklare Nadeln, die nach viermaligem Umkristallisieren bei 98–100° schmolzen. Rf = 0,60 (DS 2), 0,63 (DS 1);  $[\alpha]_D^{20} = +30^\circ \pm 1^\circ$  (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>). UV. (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH): 294 (1900), 241 (9800). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,85 (COOH), 5,62 und 5,78 (Ester und Imid). NMR. (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 1,61 (*m*-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 2,24 und 2,31 (*m*-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 3,59 (*s*-OCH<sub>3</sub>), 4,85 (*t*/*J* = 7,5) >N-CH<, 7,75 (*m*/4 arom H), 10,05 (*s*/COOH).

C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>	Ber. C 59,01	H 4,95	N 4,59	O 31,45%
(305,29)	Gef. „ 59,19	„ 4,99	„ 4,52	„ 31,39%

*Spaltung von Cephalosporin C*. Eine Suspension von 8,31 g 86-proz. Cephalosporin C (freie Säure<sup>10)</sup>, entsprechend 17,3 mMol Reinprodukt) in 700 ml abs. Methylchlorid wurde mit 9,67 ml (0,12 Mol) abs. Pyridin und 18,45 ml (0,146 Mol) Trimethylchlorsilan umgesetzt. Innerhalb von wenigen Minuten entstand eine klare hellgelbe Lösung, welche nach 2 Std. bei 30° analog wie im vorhergehenden Experiment mit 21,74 ml (0,27 Mol) abs. Pyridin und 14,2 g (68 mMol) Phosphorpentachlorid zur Reaktion gebracht wurde. Unter guter Kühlung liess man vorsichtig 250 ml abs. Methanol zufließen. Die Reaktionslösung wurde 30 Min. bei -10° und 30 Min. bei 25° stehengelassen und dann mit 40 ml 25-proz. wässriger Ameisensäure versetzt. Der pH-Wert des Gemisches wurde sofort mittels Triäthylamin auf 2,0 erhöht, wobei die Abscheidung eines feinen Niederschlages einsetzte. Nach 45 Min. bei Raumtemperatur wurde durch erneute Zugabe von Triäthylamin (40,3 ml) ein pH-Wert von 3,3 eingestellt. Nach 90 Min. Kühlung im Eisbad wurde zunächst die überstehende fast klare Lösung filtriert. Der zurückbleibende schlammartige und bräunlich gefärbte Niederschlag konnte hierauf abgenutscht werden. Nach mehrmaligem Waschen mit Methanol, dann mit Methylchlorid und Äther erhielt man ein schwach cremefarbiges Produkt, das 2 Std. im Hochvakuum getrocknet wurde: 3,90 g. Aus den methanolischen Spürlösungen wurden weitere 0,088 g fast farbloses Produkt isoliert. Die Gesamtausbeute an **1** (ca. 90% rein): 76% d. Th. Die eingedampften Mutterlaugen enthielten noch Spuren von **1**.

<sup>9)</sup> FLUKA *purum* (ca. 99-proz.), Sdp. 54–57°,  $d_4^{20}$  0,86.

<sup>10)</sup> Hergestellt aus Mononatriumsalz **2** durch Filtration einer wässrigen Lösung durch Dowex 50WX 16 (H<sup>+</sup>) und anschliessende Gefriertrocknung.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 1. Mitteilung: H. BICKEL, F. KNÜSEL, W. KUMP & L. NEIPP, *Antimic. Agents & Chemo.* **1966**, 352.  
 [2] Übersichtsreferate: E. P. ABRAHAM & G. G. F. NEWTON, *Advances in Chemotherapy* **2**, 23 (1965); E. VAN HEYNINGEN, *Advances in Drug Research* **4**, 1 (1967).  
 [3] E. H. FLYNN, *Antimic. Agents & Chemo.* **1966**, 715.  
 [4] B. LODER, G. G. F. NEWTON & E. P. ABRAHAM, *Biochem. J.* **79**, 408 (1961).  
 [5] J. NÜESCH, J. GRUNER, F. KNÜSEL & H. J. TREICHLER, *Pathol. Microbiol.* **30**, 880 (1967).  
 [6] R. B. MORIN, B. G. JACKSON, E. H. FLYNN & R. W. ROESKE, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 3400 (1962).  
 [7] E. P. ABRAHAM & G. G. F. NEWTON, *Biochem. J.* **58**, 266 (1954); **62**, 658 (1956).  
 [8] F. WEYGAND & K. HUNGER, *Chem. Ber.* **95**, 1 (1962).  
 [9] H. EILINGSFELD, M. SEEFELDER & H. WEIDINGER, *Angew. Chem.* **72**, 836 (1960).  
 [10] W. SIMON *et al.*, *Helv.* **37**, 1872 (1954).  
 [11] W. SIEFKEN, *Liebigs Ann. Chem.* **562**, 75 (1949).

## 125. Über die Synthese des Pronuciferins und einiger weiterer Proaporphin-Alkaloide

6. Mitteilung über natürliche und synthetische Isochinolinderivate<sup>1)</sup>

von **Karl Bernauer**

Chemische Forschungsabteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel

(14. V. 68)

*Summary.* Total syntheses of the proaporphine alkaloids pronuciferine (**6**), stepharine (**19**), amuronine (**7**), amuroline (**24**) and of some derivatives thereof, all as racemates, are described.

Die Totalsynthese von *rac*-Pronuciferin (**6**) wurde bereits in einer kurzen Mitteilung [2] beschrieben. Nachstehend wird über diese und weitere Arbeiten zur Synthese von Proaporphin-Alkaloiden ausführlich berichtet.

Als Ausgangsmaterial zur Synthese von **6** dient der aus Homoveratrylamin leicht zugängliche 1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dimethoxy-isochinolin-1-essigsäure-äthylester (**1**) [3], welcher durch Reaktion mit Formaldehyd-Ameisensäure und anschliessende Verseifung der Estergruppe in einer Ausbeute von 82% in 1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dimethoxy-2-methyl-isochinolin-1-essigsäure-hydrochlorid (**2**) übergeführt wird. Bei einstündigem Erwärmen mit Polyphosphorsäure auf 100° liefert **2** 1,2,3,8a-Tetrahydro-5,6-dimethoxy-1-methyl-cyclopent[*ij*]isochinolin-7(8*H*)-on (**3**)<sup>1a)</sup> in einer Ausbeute von 44%<sup>2)</sup>). Struktur **3** wird durch UV.-Spektrum (Maxima bei 259 (3,90) und

<sup>1)</sup> 5. Mitteilung: [1].

<sup>1a)</sup> *Anmerkung der Redaktion.* Die ursprünglich vom Verfasser verwendete Nomenklatur für die Verbindungen **3**, **11** und **12**, sowie für die Spiro-Verbindungen **8**, **16**, **17**, **20**, **21** und **22**, ist etwas abgeändert worden, um sie der nach Ansicht der Redaktion korrekten Auslegung der einschlägigen IUPAC-Regeln anzugleichen.

<sup>2)</sup> Die Verbindungen **2** und **3** sowie **12** sind auch in einem 1966 publizierten Patent [4] beschrieben.

<sup>3)</sup> Analog kann auch die entsprechende Verbindung mit Methylendioxygruppe in 5,6-Stellung synthetisiert werden. Die Ausbeuten in der Cyclisierungsstufe betragen aber nur 5–10% (M. CHODNEKAR, Privatmitteilung).